

東京地区における先天性副腎皮質過形成症の新生児マス・スクリーニングの昭和 62 年度成績
(分担研究：今後開発すべきスクリーニング種目の検討)

下澤和彦¹⁾, 土屋 裕²⁾, 村田光範³⁾, 田苗綾子⁴⁾,
岡田紀三男⁵⁾, 松本 勝⁶⁾, 北川照男⁷⁾
東京医科歯科大学医学部小児科¹⁾, 都立清瀬小児病院小児科²⁾,
東京女子医大第二病院小児科³⁾, 国立小児病院内分泌代謝科⁴⁾,
東京母性保護医協会⁵⁾, 東京都予防医学協会⁶⁾, 日本大学医学部小児科⁷⁾

【要約】 東京地区では昭和 59 年 1 月より都内 33 医療機関にて出生した新生児を対象とした試験的な先天性副腎皮質過形成 (CAH) の新生児マス・スクリーニングを施行している。本年度の報告として昭和 62 年度でのマス・スクリーニングの方法と成績について報告する。

【見出し語】 先天性副腎皮質過形成 (CAH)。17-hydroxyprogesterone (17-OHP)。ELISA 法。

【研究方法】

1) マス・スクリーニングの方法

表 1 に昭和 59 年 1 月からの沓紙血 17 α -hydroxyprogesterone (17-OHP) の測定法と cut-off 値の変遷を示した。第 4 期までについてはすでに昨年度の班会議で報告したが、特異性を高めるために初回測定、再測定ともに抽出法によっており、多数検体の処理に関する問題を残した。第 5 期からは、この点を解決するために試験的に初回測定を直接法で行い、上位 5 パーセントのもの抽出法で再測定する方法をとった。本年度

用いた測定法は第 7 期の日本 DPC 製の¹²⁵I による RIA 以外は ELISA 法であり、現在は、直接法、抽出法ともに栄研 ICL 製のキット (栄研 17-OHP 7 ELISA) を用いている。

表の右には再採血の基準と精密検査の基準を示したが、現在は、再採血の基準を抽出法で 8 ng/ml 血清ならびに 99 パーセント値以上とし、また精密検査の基準を初回採血あるいは再採血で 40 ng/ml 血清以上ならびに再々採血すなわち 3 回目の採血で 8 ng/ml 血清以上としている。低出生体重児に

表1 汚紙血 17-OHP 濃度の測定法と再採血，精密検査の基準

		測定法	再採血の基準	精密検査の基準
第1期 (S59.1~ 59.4)	初回測定	直接法ビーズ法EIA (β -gal法: 栄研ICL製)	99パーセント以上	再採血で 50 ng/ml以上
	再測定	同上		
第2期 (S59.5~ 59.8)	初回測定	直接法ビーズ法EIA (β -gal法: 栄研ICL製)	抽出法で 5 ng/ml ならびに 99パーセント以上	抽出法で 20 ng/ml 再々採血で 5 ng/ml以上
	再測定	抽出法ビーズ法EIA (peroxidase法: 札幌市衛研)		
第3期 (S59.9~ 61.7)	初回測定	抽出法ビーズ法EIA (peroxidase法: 札幌市衛研)	5 ng/ml ならびに 99パーセント以上	同上
	再測定	同上		
第4期 (S61.8~ 62.1)	初回測定	抽出法ELISA法 (札幌IDL製)	8 ng/ml ならびに 99パーセント以上	20 ng/ml以上 再々採血で 8 ng/ml以上
	再測定	同上		
第5期 (S62.2~ 62.3)	初回測定	直接法ELISA法 (札幌IDL製)	抽出法で10 ng/ml ならびに 99パーセント以上	抽出法で 40 ng/ml 再々採血で 10 ng/ml以上
	再測定	抽出法ELISA法 (札幌IDL製)		
第6期 (S62.4)	初回測定	直接法ELISA法 (栄研ICL製)	同上	同上
	再測定	抽出法ELISA法 (札幌IDL製)		
第7期 (S62.5~ 62.7)	初回測定	直接法ELISA法 (栄研ICL製)	抽出法で 5 ng/ml 以上	抽出法で 40 ng/ml 再々採血で 5 ng/ml以上
	再測定	抽出法RIA法 (^{125}I : 日本DPC製)		
第8期 (S62.8~ 62.12)	初回測定	直接法ELISA法 (栄研ICL製)	抽出法で 8 ng/ml ならびに 99パーセント以上	抽出法で 40 ng/ml 再々採血で 8 ng/ml以上
	再測定	抽出法ELISA法 (栄研ICL製)		

関しては，原則として日齢5～7で1回目の採血を行い，recallの基準は現段階では前述の基準すなわち正出生体重児と同じにしている。

2) 栄研17-OHP 7 ELISAについて

汚紙血17-OHP濃度の測定用キットである栄研17-OHP 7 ELISAについて以下に報告する。

① 特徴

本キットの特徴は，使用されている第1抗体が17-OHP-7-carboxyethylthioether-BSAに対する抗体であり，従来の3位のもの（多くは抗17-OHP-3-carboxymethyloxime-BSA血清）と比較して3 β -hydroxy- Δ^5 -steroidやその3-

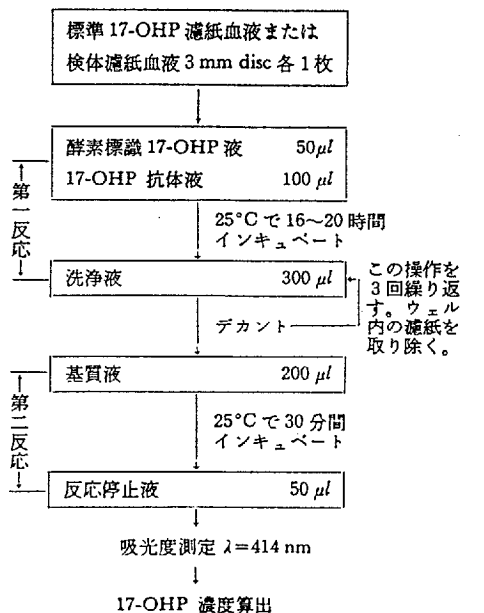


図1 栄研17-OHP ELISA 操作手順

sulfate に対する交差反応性が低いという点である。原法は滷紙血溶出液で測定するいわゆる直接法（図1に方法の概略を示す）であるが、diethyl ether による抽出液でも測定可能である。

② 標準曲線

直接法による標準曲線は図2のごとく1ng/ml 全血から300ng/ml 全血の間で良好な曲線が得られ、感度と測定範囲は十分であった。

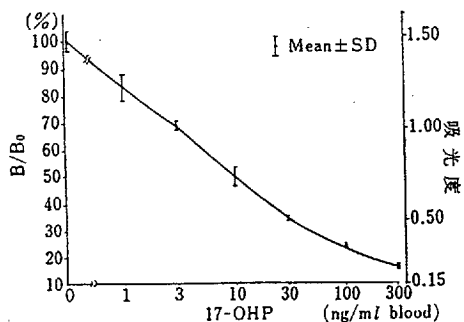


図2 栄研17-OHP 7 ELISA 標準曲線

③ 血清濃度との相関

治療前ならびに治療中のCAH患児を対象とした³H-RIA（帝国臓器にて測定）による血清濃度と直接法による滷紙血17-OHP濃度との相関は、直接法であることを考慮に入れば良好であった。但し新生児検体での相関はこれより劣ることも事実である。

④ 新生児滷紙血17-OHP濃度のヒストグラム

図4に直接法による新生児滷紙血17-OHP濃度のヒストグラムを示す。全血表示であるため、平均値の3.4ng/ml 全血はやや高めではあるが、最近の改良されたロットでの平均値は2.0~2.5ng/ml 全血すなわち血清

濃度で4~5ng/mlであり、優れた特異性を有すると考えられた。なお治療開始前のCAH患児8名では、86.3ng/ml 全血であった単純男性化型の1名を除きすべて100ng/ml を越える異常高値であった。

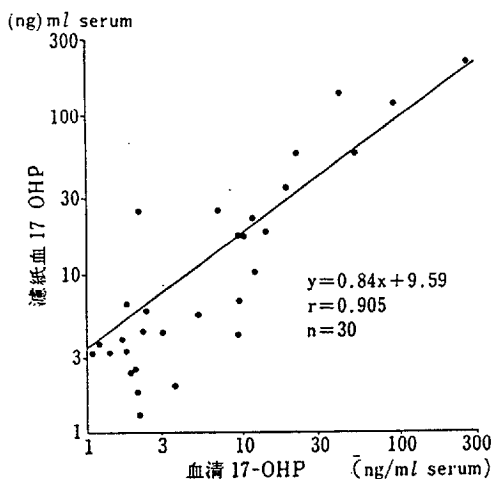


図3 血清値との相関

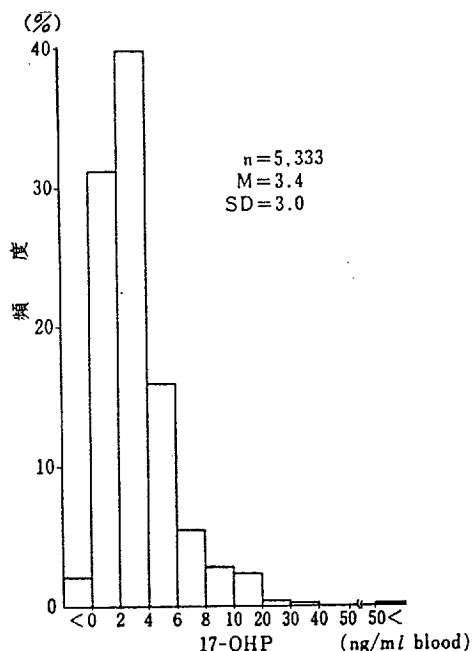


図4 滷紙血17-OHP 度数分布

表2 新生児マス・スクリーニングの成績

	受付検体数	再採血件数 (初回採血陽性件数)	要精査件数 (CAH患者数)		CAH患者数
			初回採血にて	再採血にて	
第1期 (S59.1~59.4)	8,640	92 (1.06%)	0 10 (0.12%)	10 (0)	0
第2期 (S59.5~59.8)	9,716	67 (0.69%) 69 (0.71%)	2 (2) 3 (0.03%)	1 (0)	2
第3期 (S59.9~61.7)	51,477	277 (0.54%) 283 (0.55%)	6 (3) 13 (0.03%)	7 (0)	3
第4期 (S61.8~62.1)	13,405	100 (0.75%) 102 (0.77%)	2 (0) 8 (0.06%)	6 (0)	0
第5期 (S62.2~62.3)	4,040	38 (0.94%) 39 (0.97%)	1 (0) 2 (0.05%)	1 (0)	0
第6期 (S62.4)	2,135	23 (1.08%) 24 (1.12%)	1 (0) 2 (0.09%)	1 (0)	0
第7期 (S62.5~62.7)	6,497	47 (0.72%)	0 1 (0.02%)	1 (0)	0
第8期 (S62.8~62.12)	10,839	46 (0.42%)	0 1 (0.01%)	1 (0)	0
合計	106,749	690 (0.65%) 702 (0.66%)	12 (5) 40 (0.05%)	28 (0)	5 (1/21,350)

【結果】 表2に昭和62年12月までの約4年間の成績を示した。4年間に新生児106,749名をスクリーニングし5名の本症患者の発生が確認されているが、昭和61年8月以降は本症患者は発見されていない。東京地区では現在のところ21,350人に1名の頻度ということになる。初回採血陽性率(ほとんどが再採血率)は、初回採血に直接法を導入した当初すなわち第5期と第6期では約1%と高率で、かつ要精査率も0.05~0.09%と高かった。しかしながら第7期以降は直接法の改良とともに測定自体にも慣れ、第8期すなわちここ5カ月間での再採血率は0.42%、精査率は0.01%へと低下している。なお現在までのところ見逃し例の報告はない。

表3に昨年度の班会議報告以降の要精査者のデータを示した。全部で14例であり、2名の未熟児の未報告例を除き全例が偽陽性であった。性別では男11名に対し女3名と男児が多かった。低出生体重児は7名の50%であり、出生体重から推測した不明例も含め早産児は11名の78.6%と極めて高率であり、初回採血日齢も12~35日と遅いものも認められた。第1次スクリーニングでの汎紙血17-OHP値は抽出法(血清表示)で8.6~84.0ng/mlであり、50ng/ml以上の異常高値を示したものは4名で、内3名が出生体重が816g, 1,400g, 892gの極少あるいは超未熟児であった。

第2次スクリーニング時の日齢は12~50

表3 要精密検査者一覧表

No	性	低体重	在胎週数	沓紙血17-OHP濃度 (ng/ml)						精密検査時の血清17-OHP濃度 (ng/ml)		最終診断		
				第1次スクリーニング			第2次スクリーニング			日齢	?			
				採血日齢	直接法	抽出法	採血日齢	直接法	抽出法					
第4期	27	女	+	(816)	?	14	-	50<	-	-	-	?	?	?
	28	男	+	(2,166)	?	5	-	9.0	20	-	6.1	?	?	?
	29	男	-	(2,792)	34.0	5	-	20.2	20	-	8.6	3.80	26	偽陽性
	30	男	+	(2,180)	33.7	8	-	19.3	15	-	16.0	1.69	36	偽陽性
	31	男	-	(2,648)	35.2	5	-	11.2	24	-	11.3	0.66	40	偽陽性
	32	男	+	(1,400)	30.6	35	-	69.1	-	-	-	1.47	50	偽陽性
	33	男	+	(2,440)	35.2	5	-	13.2	15	(136)	48.6	2.19	21	偽陽性
	34	男	-	(2,970)	36.0	3	-	10.4	13	-	13.0	2.66	28	偽陽性
第5期	35	男	-	(3,090)	41.0	5	47.7	10.7	12	80.4	16.4	3.90	30	偽陽性
	36	男	+	(892)	26.0	12	91.7	84.0	44	56.6	6.5	-	(44)	偽陽性
	37	男	-	(2,800)	41.0	5	126.0	55.1	13	11.0	2.0	-	(13)	偽陽性
	38	男	-	(?)	?	23	97.2	15.8	35	44.2	18.0	-	(35)	偽陽性
	39	女	-	(2,520)	36.0	5	39.9	8.8	15	30.5	16.3	0.87	35	偽陽性
	40	女	+	(2,450)	34.0	5	9.7	8.6	13	13.2	10.7	1.10	49	偽陽性

?:不明、 -:未測定

であり、第1次スクリーニングの採血から7~32日、13±6日(平均値±SD)後であったが、再採血の遅れた超未熟児の1例を除けば7~19日、11±4日後で、その時の日齢は18±7日であった。一方、精密検査時の日齢は34±11と遅かったが、これは大半が第2次スクリーニングを経て受診したものであったこと、ならびに沓紙血17-OHP値がcut-off値に近く第3次スクリーニングすなわち3回目の沓紙血の採血を行ったものも含まれているためである。

なお精密検査時のRIAによる血清17-OHP濃度は0.66~3.90ng/ml、2.04±1.13ng/mlであり、明らかな高値を示したものは認めなかった。

【考察】 東京都では、一部地域でのCAHの新生児スクリーニングを始めて4年になる。この間にビーズ法EIA(β-gal法とperoxidase法)、RIA法(¹²⁵I)および

ELISA法(peroxidase法)と幾種類かの沓紙血17-OHP濃度の測定法を経験したが、マス・スクリーニング用としては、測定操作が容易かつ迅速で、多数検体の処理能力にも優れ、放射性同位元素を使用しないELISA法が最も適した方法と考えられた。但し、ELISA法についても現在いくつかのキットがあり、(1)第1抗体の種類(3位か7位か)、酵素結合17-OHPの種類(酵素の結合部位)および第1抗体と酵素結合17-OHPの組合せなどにより測定の特異性や正常値が異なること、(2)当然ではあるが17-OHP高値の確認にはエーテル抽出法が必須であること、さらに(3)ELISA法は酵素反応を利用しているために稀ではあるが非特異的反応の起こる可能性があることなどを常に念頭に置く必要がある。ことに(3)の点で¹²⁵I-RIAによる沓紙血17-OHP濃度測定用のキットも有用と考える。以上のことよ

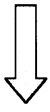
り、本年度は測定の特異性に優れた栄研17-OHP 7 ELISAを用いてマス・スクリーニングを行った。さらに近い将来の行政的施行を円滑にするための資料を得るために、初回測定を直接法で、再測定(異常値の確認)をエーテル抽出法で行う方法の正確性ならびに安全性についても検討した。

使用した栄研17-OHP 7 ELISAでは、概して3位の第1抗体を用いた測定法と比較してより低値の汚紙血17-OHP濃度が得られた。しかしながら、直接法が抽出法より高値となることは従来と変わらなかった。この点を解決するためには、再三述べているように抽出法が必要であるが、抽出法によっても未熟児ことに早産児が高値を示す傾向は同様であり、新生児の未熟性に応じた対応、すなわち具体的には昨年度の報告で提案した採血時の修正在胎週数別の分析によるcut-off値の設定などのスクリーニングでの特異性を向上させる対策が必要と考えられた。

さらに本年度問題になったのは、精検医療機関の受診時日齢の遅いことである。この理由として、(1)精検対象児には未熟児ことに早産児が多く、ために初回採血日齢が遅れがちなこと、(2)NICUなどに入院中の精検対象児の場合、異常値の報告に迅速な対応(具体的には再採血)がみられない症例の存在すること、(3)中等度の高17-OHP血症を認めた場合には、第3次スクリーニングすなわち再々採血を経て精検医療機関を受診するシステムをとったことなどのためと考えられる。もっとも、現行のシステムでは、汚紙血17-OHP濃度が抽出法で40 ng/ml血清を越えた時点で精検対象となるため、初回採血の遅延のないように、また異常値の報告

から汚紙血採取あるいは精検医療機関への受診までの期間が長くなるように留意することがスクリーニングの安全性を保證する意味で最も重要なポイントと考えられる。このことから第3次スクリーニングの必要性について再考する必要がある。そもそも第3次スクリーニングの目的の多くは要精検者を少なくすることであり、現行の低いcut-off値(抽出法での8 ng/ml血清)を採用する限りはやむを得ないが、第8期(昭和62年8月以降)での要精検率はわずか0.01%(1/10,839)ときわめて低く、第2次スクリーニングの段階で、安全に一定の精検率になるように適切なcut-off値を定めればこの省略も可能と考える。

- 1) Dept. of Pediatrics, Faculty of Medicine, Tokyo Medical and Dental Univ.
- 2) Dept. of Endocrinology and Metabolism, Tokyo Metropolitan Kiyose Children's Hospital
- 3) Dept. of Pediatrics, Tokyo Women's Medical College Daini Hospital
- 4) Division of Endocrinology and Metabolism, National Children's Hospital
- 5) Tokyo Branch of Japan Association for Maternal Welfare
- 6) Tokyo Health Service Association
- 7) Dept. of Pediatrics, Nihon Univ.



検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用

論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



【要約】東京地区では昭和 59 年 1 月より都内 33 医療機関にて出生した新生児を対象とした試験的な先天性副腎皮質過形成(CAH)の新生児マス・スクリーニングを施行している。本年度の報告として昭和 62 年度でのマス・スクリーニングの方法と成績について報告する。